

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



556237

(43) 国际公布日:
2005年5月6日(06.05.2005)

PCT

(10) 国际公布号:
WO 2005/039526 A1

(51) 国际分类号⁷: A61K 9/00, 51/00, 121/00, A61B 18/00, A61P 35/00

(21) 国际申请号: PCT/CN2004/000555

(22) 国际申请日: 2004年5月28日(28.05.2004)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
03132373.1 2003年8月18日(18.08.2003) CN
03152895.3 2003年9月1日(01.09.2003) CN
03158291.5 2003年9月23日(23.09.2003) CN
200410014108.2 2004年2月20日(20.02.2004) CN
200410014367.5 2004年3月19日(19.03.2004) CN

BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护):
ARIPO(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

(71)(72) 发明人/申请人: 吴巍(WU, Wei) [CN/CN]; 中国江苏省南京市丁家桥路87号, Jiangsu 210009 (CN)。

根据细则4.17的声明:
— 发明人资格(细则4.17(iv))仅对美国

(74) 代理人: 南京知识律师事务所(NANJING LAW OFFICE OF INTELLECTUAL PROPERTIES); 中国江苏省南京市广州路177号2楼, Jiangsu 210024 (CN)。

本国际公布:
— 包括国际检索报告。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护):
AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW,

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: METHOD, REAGENT AND DEVICE FOR EMBOLIZING CAPILLARY VESSEL IN TUMOR WITH SUPERSONIC TINY-BUBBLE REAGENT

(54) 发明名称: 超声辐射微泡试剂致肿瘤血管栓塞的方法、试剂和装置

(57) Abstract: Method, reagent and therapeutic device for embolizing capillary vessel in tumour The method is that the ultrasound microbubble agent is injected into organism tissue, and irradiate the situs requiring formation of capillary vessel embolization under low power and frequency ultrasound, thus selective result in thrombus formation at location. The ultrasound microbubble agent includes prior ultrasound microbubble agent, CO₂ microbubble agent comprising macromolecule substance and isotope microbubble agent comprising targeted substance. The therapeutic device consists of injection device of ultrasound microbubble agent, device of localization and ultrasonic therapeutic device. The device also includes medical ultrasonic therapeutic head.

(57) 摘要

一种导致肿瘤血管栓塞的方法, 试剂以及医疗装置。该方法是通过将超声微泡试剂注入生物体内, 在需要形成毛细血管栓塞的部位用低功率低频率超声波进行照射, 从而选择性形成区域毛细血管栓塞。超声微泡试剂包括现有的超声微泡造影剂, 以大分子物质作为载体的二氧化碳微泡试剂以及带有靶向物质的同位素微泡试剂; 用于使超声微泡造影剂致毛细血管栓塞的医疗装置由超声微泡造影剂注射装置、区域定位装置和超声治疗装置构成。该装置中包括医用超声治疗头。

WO 2005/039526 A1

超声辐射微泡试剂致肿瘤血管栓塞的方法、试剂和装置

技术领域

本发明涉及超声辐射微泡试剂致肿瘤血管栓塞的方法、试剂和装置,包括超声微泡试剂用于形成毛细血管栓塞的用途,尤其是将超声微泡试剂得到一种药物方面的用途,可以用于形成毛细血管栓塞而扼制或消除肿瘤,制成新的试剂。

背景技术

恶性肿瘤是当前危害人类健康的主要疾病之一,是一种常见病,多发病。根据国家卫生部最新统计资料,我国是世界上拥有癌症患者较多的国家之一,且呈不断上升趋势,每年新增患者人数约 200 万人,死亡 150 万人。如何安全有效的抑制肿瘤生长和扩展已成为人类与病魔抗争的尖锐问题。

早在一百多年前人们就已经发现,肿瘤组织较正常组织富含血管。1971 年,美国哈佛医学院的 Folkman 提出了“肿瘤的生长必须依赖血管”的著名论点,并逐渐被人们所接受。近年来,国内外医学专家研究发现,肿瘤血管是肿瘤细胞生长和转移的形态学基础,肿瘤血管除向肿瘤细胞提供营养外,还不断地向人体其它部位输送肿瘤细胞,导致恶性肿瘤的生长和转移。因此,阻断肿瘤血供、抑制肿瘤新生血管形成,是肿瘤临床治疗中具有理论支持的一个行之有效的方向。

当前,肿瘤的早期治疗仍以外科手术为首选治疗方案。但术后肿瘤转移和复发的风险较大。而化疗、放疗和热疗等主要作用途径在于直接杀灭肿瘤细胞,诱导细胞凋亡。在肿瘤的治疗中,这些方法可以消除大部分病变或控制病变进展,但仍未能解决控制肿瘤、抑制肿瘤新生血管形成的问题,同时,上述治疗还存在较严重的毒副作用,影响肿瘤治疗效果。目前肿瘤介入栓塞治疗由于器械和操作手法的限制,只可作用于中等以上管径的动静脉,对于直接供应肿瘤组织营养的微小血管网络(血管床)则无能为力。综上所述,尽管肿瘤新生血管理论的研究有了长足的进步,但针对肿瘤新生血管的治疗仍然存在许多困难。

自上世纪四十年代超声技术应用于医学临床诊断以来,随着医学、物理学等交叉学科的迅速发展,超声的物理特性和生物学效应(热效应、空化效应、机械效应等)的运用已渗透到了人体保健、疾病预防、疾病治疗(包括体外碎石、止血、肿瘤切除等)、生物技术(如基因转染)等医学领域。随之而兴起的超声生物学效应的研究揭示了超声与生物体系各个层次相互作用的机制,其中空化效应作为超声生物学的重要效应之一。超声波通过辐射作用于空化核而产生空化效应,空化效应的强弱与空化核浓度相关。而哺乳动物体内由于空化核数量极少,要产生空化效应需高功率的超声辐射,其对生物组织的损伤较大。国内外研究证实,高能超声可诱导组织中含有的空化核产生空化效应,产生高温高压破碎靶组织,但其作用范围无法精确控制(如 HIFU),无法将其引入肿瘤血管的栓塞治疗。

近年来,超声造影剂在超声影像诊断中的应用研究十分活跃。但利用其富含的微泡加强超声生物效应用于治疗的研究,目前国内外均处于起步阶段。超声微泡试剂沿用放射医学 X

光照影剂的称谓，在医学超声上也叫做超声造影剂。

自 J. D. Folkman 提出了“肿瘤的生长必须依赖血管”的著名论点以来，以血管为靶目标治疗肿瘤即行血管栓塞、切断肿瘤新生血管生成的“肿瘤饥饿疗法”是近年来继手术、化疗及放疗后发展起来的一种新的肿瘤治疗方案，特别是在不能行手术切除和术后复发的肿瘤治疗中为首选方案。

目前，天然血管生成刺激物和内源性血管生成抑制剂的应用将逐渐成为治疗肿瘤的新战略。干扰素 α -2a 已被成功地用于治疗威胁儿童生命的肺血管瘤，甚至还可以用于对组织破坏作用大的血管瘤；多种血管生成抑制剂已进入临床试验，如用重组血小板因子 4 治疗晚期结肠癌，用金属蛋白酶抑制剂 Batimastat 治疗晚期肿瘤，用羧氨基三唑治疗肾细胞癌、卵巢癌和非小细胞肺癌、TNP470 已通过 FDA 批准，进入了临床试验。最近，辉瑞公司等已开发出以肺癌血管新生作为靶点的新型抗肿瘤药物，并经 I 期临床试验。证明与化疗药物合用具有明显的抗肿瘤治疗作用。但是，多数抗血管生成的治疗措施尚处于实验研究或临床试用阶段，还存在着不少问题；如用抗血管生成治疗后，肿瘤细胞会产生耐受性，停止用药后，肿瘤便又开始复发生长，另外，抗血管生成剂还有不良反应作用，如影响伤口愈合等其疗效的综合评价还有待于长期的临床观察证实。目前抗血管生成治疗尚处于初期尝试阶段，还很难评价其临床应用价值。

迄今为止，在世界范围内只有一种名为“阿瓦斯丁”(Avastin)的基因工程单克隆抗体药物(一种通过抑制能够刺激新血管形成的“血管内皮生长因子”抗癌新药)于 2004 年 2 月获得美国食品和药物管理局(FDA)的批准，这是美国批准上市的第一种采用“饿死肿瘤”技术的抗癌新药。

现行肿瘤治疗方法和设备的比较见下表：

表 1. 现行肿瘤治疗方法和设备的比较

序号	名称	优点	缺点	应用范围	费用
1	手术治疗	切除局部肿瘤，达到“根治”	手术适应症严格，相当数量病人不能接受；多发性病变无法手术切除；绝大多数病人手术后仍需接受化疗、放疗。	局限于某一可切除区域。病变累及器官部分切除后不影响原器官功能。	费用较高
2	化、放疗	手术切除病变前后均可接受；不宜手术和已转移复发者的病人以这两项治疗为主；	对病人的骨髓抑制明显，易损伤免疫功能；体质差的病人不能接受这两项治疗。	肿瘤手术前后均可接受；不宜手术和转移复发者的肿瘤病人；部分恶性肿瘤以化疗或放疗为主要手段	费用高
3	免疫治疗	改善病人免疫功能，控制肿瘤进展	目前尚无完善地免疫治疗方法；多数处于研究阶段	各种恶性肿瘤	费用甚

	疗				高
4	基因 疗法	可从基因水平抑制 瘤	处于实验研究阶段;个别疗 效仍待观察	各种恶性肿瘤	费用 甚高
5	微波 热疗	加热稳定, 浅表疗 效好, 多源可扩大 辐射面, 可行腔内 治疗	穿透浅, 测温难, 需配 辐射防护, 调整较难, 深部疗效不佳	浅表肿瘤, 食道、直 肠、宫颈等管腔内的 肿瘤	较 低
6	射频 热疗	可加热较大的体 积, 配备外循环 冷却水袋后, 可加 热较深或较大的 瘤体	易损伤皮下脂肪, 场强分 布不均, 需配辐射防护, 调整较难深部疗效不佳	瘤体位置较浅的肿瘤	适 中
7	H I F U 热 疗	穿透性能好, 可治 疗浅表及深部的肿 瘤, 灭活效率高	含气脏器不能治疗, 操 作繁杂, 测温困难, 费用 昂贵	体积适中的肿瘤, 瘤体 位置较深的肿瘤	较 高

超声微泡试剂是一种用于超声检测的试剂, 主要用于超声心肌显影, 参见“超声照射对声振微泡稳定性的影响”, 查道刚等, 第一军医大学学报 1999 年第 5 期第 19 卷, 试剂微泡浓度、大小是影响心肌声学显影最重要因素。研究报导了采用 $2 \times 2 \times 4$ 析因分析法分析不同超声照射条件对试剂微泡浓度及直径的影响, 即声波频率、能量以及照射时间对微泡浓度、大小的单独及交互作用。为临床静脉心肌声学试验检查时选择适宜的超声照射条件提供参考。结果是能量越大、照射时间越长, 微泡破坏越多, 平均直径越小; 照射频率对微泡浓度影响不大, 但影响微泡大小, 频率越高, 微泡越小。现有的超声微泡试剂有采用蛋白质包裹气体微泡可以通过肺循环到达左心完成心肌显影。又有氟碳微泡试剂的制备, 可以取 5% 人白蛋白溶液 10ml 装入塑料注射器中, 使用进口声振仪处理。声处理过程中向白蛋白溶液内匀速注入氟碳气体。采用该方法制备得到的试剂微泡直径为 $2.0 \sim 5.0 \mu\text{m}$, 其中 $98\% < 10 \mu\text{m}$; 微泡浓度为 $(1 \sim 2) \times 10^{12}$ 个/L。该试剂经静脉注射后, 在普通型超声仪上即可实现明显的心肌显影, 其诊断原理是: 微泡回声强度与微泡半径的 6 次幂呈正相关, 故认为浓度高、直径大的微泡试剂其回声强度往往较高。超声也成为瓣膜病的首选成像技术是因为它可提供有关评估瓣膜病的血流动力学、结构、功能、严重程度、可能的病因以及预后等方面的信息。

、现有的超声微泡试剂具有多种, 如被美国 FDA 批准临床应用的试剂 Albunex 和 Optison 等, 氟碳微泡试剂, 生理盐水制微泡试剂以及如下超声微泡试剂: 列微显 (德国先灵公司)

1) Albunex 人体白蛋白包膜气泡液体 (Molecular Biosystems Inc. USA)

- 2) fso69 包膜气泡液体, (Molecular Biosystems Inc. USA)
- 3) SHU454 半乳糖气泡液体, (ScheringAG German)
- 4) SHU508 半乳糖气泡液体, (ScheringAG German)
- 5) QW3600 (Sonus Pharmaceuticals Cosla Mesa)

现有的氟碳微泡试剂,其制备是取人白蛋白溶液,使用超声振动仪。声处理过程中向白蛋白溶液内匀速注入氟碳气体。可以使用生理盐水制微泡试剂,制备过程类同上述。

现有的超声微泡试剂包括提及的生理盐水、人血白蛋白的超声试剂(用于超声心肌显影等)在临床研究中已得到应用。如列微显(德国先林灵公司产品)也是用大分子的脂肪酸作为超声试剂的主要成分。这些大分子物质在超声试剂中起到包裹、黏附、稳定和携带气泡的作用,因此在目前的超声试剂中得到普遍地应用。超声微泡试剂主要携带空气、氟碳气体等,进口的超声微泡试剂价格昂贵,用于本发明目的未必最优,生理盐水等加气搅拌的效果不够好,氟碳人血白蛋白微泡剂从血液制品为原料制得,可能有引起过敏和血源传染性疾病的危险。

近年来,微泡试剂等微泡试剂在超声影像诊断中的应用研究十分活跃。但利用微泡试剂等加强超声生物效应以用于治疗的研究,目前国内外均处于起步阶段。超声诱导微泡试剂导致血管内血栓尤其是毛细血管的形成,尚未见报告。

现有的放射免疫显像的方法是:标记单克隆抗体,经一定途径引入体内后,可定向地、特异地与肿瘤细胞相关抗原结合,经过一段时间后,肿瘤部位放射性积聚至一定浓度,用 γ 相机或SPECT进行平面或断层显像,即可显示肿瘤及转移灶的大小、部位和范围。适应症:肿瘤探查(已知原发灶,了解肿瘤浸润及转移情况;原发灶切除术后,探查肿瘤有无转移;已知转移灶,原发灶探查)。肿瘤定性,肿瘤分期。

现有的放射免疫治疗的方法是:利用特异性抗体作载体将发射 β -或 α 粒子的放射性同位素核素引向肿瘤抗原部位,实现对瘤体的内照射治疗,多为静脉给药,也可局部给药,经过广泛临床试用,已经有相当效果。

现有的功率超声治疗头一般不能直接作用于人体,如有超声波在水浴中进行工作,也用于碎石和其它治疗。但水浴中的治疗方法限制了用途,治疗也极不方便。功率超声波直接作用于人体皮肤组织时,会造成组织的灼伤。

发明内容

本发明目的是:提供超声辐射微泡试剂致肿瘤血管栓塞的方法,尤其是提供将超声微泡试剂得到一种药物方面的用途,可以用于形成毛细血管栓塞而扼制或消除肿瘤等疾病。提供一种二氧化碳型超声诱导血管栓塞术的微泡试剂。

本发明的目的还在于:提供一种超声辐射微泡试剂致肿瘤血管栓塞的医疗装置。尤其用于定位和定区域形成毛细血管栓塞治疗肿瘤和恶性肿瘤。包括提供一种医用功率超声治疗头,尤其是一种带有藕合和缓冲保护装置的手持式超声治疗头,实现无创的功率超声传递,且使用治疗方便。

本发明目的还在于:提出一种带有靶向物质的示踪或标记同位素超声辐射微泡试剂及用

途，尤其是特异性强的用于体内诊断和治疗的同位素标记物微泡试剂，用于对肿瘤的检测、定位，即对形成毛细血管栓塞超声微泡造影剂的应用作出区域定位以及治疗效果评价；解决应用于在肿瘤治疗中监测和治疗应用间的矛盾问题；

本发明的目的还在于：提高在定位和定区域形成毛细血管栓塞治疗肿瘤和恶性肿瘤的效果；涉及将靶向物质示踪或标记的同位素治疗结合超声辐射微泡试剂形成毛细血管栓塞综合治疗肿瘤的方法。

本发明的目的是这样实现的：超声辐射微泡试剂致肿瘤血管栓塞的方法，用于形成血管或毛细血管栓塞，将超声微泡试剂注入的方式作为形成血管或毛细血管栓塞剂，在需要形成血管或毛细血管栓塞的部位用超声波进行定位照射，选择性诱导形成区域毛细血管栓塞。作用的超声波没有特定要求，一般采用低能量和低频率的超声波，超声波本身不会给正常机体造成任何不良影响，超声辐射微泡试剂药用的范围没有特定限制。可以使用氟碳微泡试剂，其制备是取人白蛋白溶液，使用超声振荡仪。声处理过程中向白蛋白溶液内匀速注入氟碳气体。可以使用生理盐水制微泡试剂，制备过程类同上述。商业使用的进口超声微泡试剂亦可。

超声微泡试剂注入的方式作为形成毛细血管栓塞剂，在需要形成毛细血管栓塞的部位用超声波进行作用。此区域毛细血管就会形成栓塞。实验表明，使用低功率超声联合微泡试剂作用于带瘤动物，选择性诱导形成肿瘤周围微小血管栓塞，是一种新型高效微小血管栓塞的方法，从而为肿瘤的血管栓塞治疗提供新的药物和治疗途径。

超声微泡试剂注入的方式作为形成毛细血管栓塞剂，一般采用低能量和低频超声波。处理时间也很宽，没有特殊限定，一般在 0.5-60 分钟。研究表明，在输入微泡造影剂前，低功率超声照射并不引起微血管的破坏，输入微泡不使用超声照射也不引起微血管破坏，而在输入造影剂并超声照射后，发现直径 $< 7\mu\text{m}$ 的微血管发生了损伤。另外有研究表明，在组织中含有微泡试剂时，可人为地提高体内空化核的数量，使得施加低剂量超声即可产生过去高功率单纯超声才能诱导的空化效应。

基于上述机理，利用低功率超声辐射经静脉注射的微泡造影剂，可致肿瘤及其周围组织中的微小血管内产生空化效应，破碎微小血管管壁和部分周围组织，激活内源或外源性凝血机制，诱发肿瘤新生血管的血栓形成，从而切断作用区域内肿瘤直接血液供给的途径，造成局部肿瘤细胞坏死，进而使肿瘤体积缩小，控制肿瘤进展，达到安全无创治疗肿瘤的目的。

本发明利用低功率超声辐射经静脉注射的微泡造影剂产生空化效应，直接以肿瘤提供营养的血管网络为靶向目标，适用于临床各期不同位置的肿瘤施行血管栓塞治疗，充分实现了 Folkman 提出的“阻断肿瘤血供、抑制肿瘤新生血管形成”的肿瘤治疗理论，是一种体外无创肿瘤治疗的全新方法，使新生血管理论真正被应用于临床成为可能。这种新型、高效的肿瘤血管栓塞治疗方法，为肿瘤治疗提供新的途径，国内外尚未见报道。

本发明提出的用于超声诱导血管栓塞术的微泡试剂，采用二氧化碳型发生型微泡试剂，并包括选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体。大分子的物质有多种选择，如包括各种代血浆、自体血液，自体血浆，同型血浆，半乳糖，葡萄糖，乳

糖, 羟乙基淀粉 (Hetastarch), 人血白蛋白 (Human Serum Albumin)、右旋糖酐 70 (Dextran-70)、右旋糖酐 40 (Dextran-40)、右旋糖酐 10 (Dextran-10)、聚明胶 (Polygeline)、琥珀明胶 (Gelofusine)、聚维酮 (Polyvidone) 或氧化聚明胶 (Dxypolygelatin)。而半乳糖, 葡萄糖相对分子量较小, 粘度低, 稳定和携带气泡的时间短。

本发明微泡试剂的具体方案包括两类: 其一是物理形成二氧化碳气体微泡试剂, 在压力下二氧化碳气体或液体注入溶有大分子物质的溶液中, 其二是包括有机酸如维生素 C 等 (Vitermin C) 和 NaHCO_3 构成的二氧化碳化学形成微泡试剂, 维生素 C 和 NaHCO_3 二者均可以作为药物注射人体。二者反应生成二氧化碳微泡气体, 可以进行本发明所施行的手术。将超声微泡试剂注入的方式, 且可以局部注入空化成核剂, 在需要减脂的部位用超声波进行贴近照射, 选择性诱导形成积淀的脂肪细胞破坏。

为了保证微泡气体气泡的粒径和稳定, 选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体, 尤其使用代血浆类包裹体, 如羟乙基淀粉 (Hetastarch) 等。

一般而言, 有机酸的种类很多: 如抗坏血酸 (维生素 C)、乳酸, 柠檬 (枸橼) 酸, 琥珀酸, 酒石酸, 乙酸, 乳糖酸、半乳糖酸、葡萄糖酸、氨基葡萄糖酸、氨基酸等。尤其注射药用级的柠檬酸、乳酸, 葡萄糖酸、氨基酸是常用的选择。

二氧化碳微泡气体型

典型的配方如下: 维生素 C (Vitermin C, 包括上述各种有机酸) 25% (折合浓度 100%)

NaHCO_3 50% (折合浓度 5%)

羟乙基淀粉 (Hetastarch) 25%

每公斤体重注射 1-10 毫升, 产生的微泡数量达到每毫升 10^6 - 10^{10} , 粒径 1-10 微米,

本试剂临床使用时应按体重身高、体表面积计算二氧化碳最大承受量, 在上述范围内调整。

超声空化可在短暂时间内使组织产生空化作用致细胞发生声孔效应, 对周围大分子开放或被高温高压破碎。而生物体在通常情况下体液内的空化核的浓度很低, 产生空化效应需用高强度超声辐射, 在有效杀灭靶组织的同时也造成周围组织损伤, 选择性低, 损伤大, 而无法将其引入血管栓塞治疗。研究表明, 在组织中含有微泡试剂时, 低剂量超声即可产生过去高功率单纯超声才能诱导的声孔效应。本发明在实验中使用的微泡试剂, 最初用于超声诊断, 它可随血流到达组织器官, 提高局部组织的空化核含量。

我们在实验中仅用低功率的超声辐射, 即可使微泡产生空化, 破碎微血管管壁和部分周围组织, 激活内源或外源性凝血, 诱发大面积毛细血管血栓形成, 阻断作用区域的直接血液供给途径; 而没有微泡试剂的区域, 少有血栓形成。实验中发现, 单纯超声辐射作用引起的血管栓塞率较低, 仅有 34.15% 的血管发生了不同程度的栓塞; 超声+微泡试剂作用时, 血管栓塞率显著提高, 达到 89.11%。本发明采用超声微泡试剂注入的方式, 在需要形成毛细血管栓塞的部位用超声波进行作用。此区域毛细血管就会形成栓塞。实验表明, 使用低功率超声联合微

泡试剂作用于带瘤动物，选择性诱导形成肿瘤周围微小血管栓塞，是一种新型高效无创的血管栓塞的方法，从而为肿瘤的血管栓塞治疗提供新的药物和治疗途径。

本发明使用带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂，将超声微泡造影剂与带有靶向物质的示踪或标记同位素物质混合或结合，从而可以用 γ 射线相机或 γ 射线 SPECT 设备或检测俄歇电子示踪的 PET 设备进行同位素检测，从而对肿瘤进行准确的区域定位。

带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂的种类很多，如同位素标记白蛋白微泡，同位素标记的物质如上所述：涉及 ^{125}I 、 ^{123}I 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($^{99\text{m}}\text{Tc-PYP}$ 等)、 ^{111}In 、 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{13}N 、 ^{82}Rb 。其中正电子衰变放射性核素 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{18}F 等机体天然存在的元素标记的放射性药物用于 PET 显像，进行了脑、心肌灌注显像、代谢显像，肿瘤良、恶性判断显像。

同时具有治疗功能的带有靶向物质的示踪或标记同位素： ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{198}Au 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($^{99\text{m}}\text{Tc-PYP}$ 等)、 ^{111}In 、 ^{125}I 及 ^{131}I 、 $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ 为主的一系列 β 内介入治疗剂， $^{90}\text{Y-GTMS}$ 、 $^{89}\text{SrCl}_2$ 等。

靶向物质包括上述人血清白蛋白 ($^{99\text{m}}\text{Tc-MAA}$)、植酸钠、胶体 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、标记红细胞、EHIDA、 $^{99\text{m}}\text{Tc-PMT}$ 、 ^{131}I -玫瑰红、硫胶体、DTPA、EHIDA、二巯丁二酸 ($^{99\text{m}}\text{Tc-DMSA}$)、葡萄糖酸钙、邻碘马尿酸，尤其包括分子核医学的单克隆抗体、癌基因反义寡核苷酸等，从而使受体放射性核素显像和放射性核素治疗有更好的效果。

微泡试剂包括已经作为临床的氟碳微泡试剂，生理盐水制微泡试剂、半乳糖气泡液体、包膜气泡液体，也包括上述二氧化碳发生型微泡试剂，并包括选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体。

本发明装置由超声微泡造影剂注射装置、区域定位装置和超声治疗装置构成，超声微泡造影剂注射装置将超声微泡造影剂注入的方式作为毛细血管栓塞剂，区域定位装置确定需要形成毛细血管栓塞的部位，超声治疗装置在此部位用超声波进行贴近照射，选择性诱导形成区域血管或毛细血管栓塞。此区域毛细血管就会形成栓塞。

超声治疗装置的输出能量和输出频率的范围：一般采用低能量和低频率的超声波，处理时间也很宽，没有特殊限定，一般在 0.5-60 分钟。超声波本身不会给正常机体造成任何不良影响。

本发明装置中包括带有藕合和缓冲保护装置的手持式超声治疗头，包括金属治疗头、电极片、陶瓷片、变幅杆、配重、电源线、手柄、端接头、接插头、开关、指示灯、水膜囊，在治疗头上设有包裹的水囊。(医用)功率超声波发生器主机产生特定频率的功率电信号，手持治疗头中的压电晶片将电功率转换振动功率，并通过变幅杆结构实现振幅放大，以传导方式输出至治疗头。本发明在使用时通过水囊的水将能量传递出。注水囊同时具有藕合和缓冲保护机体组织的作用。本发明的医用超声治疗头的改进，在各种用途对功率超声波的工作频率和功率均可以使用，包括用于治疗 and 保健美容等领域，尤其是与人体接触的场所。

在首先观察到低功率超声辐射微泡试剂诱导正常兔肝小血管内血栓形成的基础上，采用正常动物、动物移植瘤模型，已观察到低功率超声辐射注入血管内的微泡试剂诱发“声孔效应”所致组织(正常动物和移植瘤)中血管损伤及血栓栓塞，并诱导肿瘤组织出现梗死和大

面积的坏死,而正常肝组织和肌肉组织未出现损伤性病变;单纯超声所致肿瘤组织损伤不明显。我们开展了使用低功率超声联合微泡试剂作用于带瘤动物,选择性诱导形成肿瘤周围微小血管栓塞,是一种新型高效微小血管栓塞的方法,从而为肿瘤的血管栓塞治疗提供新的药物和治疗途径。低功率超声诱导微泡试剂致肿瘤血管栓塞疗法系统,包括一种全新的无创方法,以其安全性和高效性适应了抗癌的迫切需求,塑造了癌症患者的第二次生命。开创癌症治疗新纪元——低功率超声诱导微泡试剂致肿瘤血管栓塞疗法。与手术、化疗、放疗及热疗等肿瘤治疗方法相比较,本发明使用低功率超声联合超声微泡试剂选择性诱导形成肿瘤血管栓塞的新疗法具有明显的优点:

- (1) 低频、低功率的超声穿透性能好,治疗能量低,输出声功率只有 0.3W 即可,几乎与理疗机相等,无痛无创无损伤,治疗定位精确,治疗效率高,可适用于浅表及深部的肿瘤治疗,无副作用,安全有效。
- (2) 可对不同的种类、病程、大小和位置的肿瘤进行体外治疗,操作简便,治疗计划安排灵活。
- (3) 治疗成本较低,操作方法易掌握,易于推广。

本发明可以进行特色疗法,发展低功率超声诱导微泡试剂致肿瘤血管栓塞疗法的同时又带动了放疗、化疗和辅助检查,利用低功率超声辐射微泡试剂诱导肿瘤小血管内血栓形成,造成血管栓塞,达到阻断肿瘤血供,提供临床治疗肿瘤新方法和设备。提供的一种医用功率超声治疗头,是一种带有藕合和缓冲保护装置的手持式超声治疗头,实现无创的功率超声传递,且治疗和保健等使用时方便。

本发明以 B 超或 CT 引导下肝、肾及软组织肿瘤患者为临床研究对象,明显观察超声及微泡靶向诱导肿瘤血管栓塞的效果。

本发明微泡试剂的特点:

- 1、属二氧化碳型微泡剂,在体内易于溶解随呼吸从肺排出,减少微气泡引起气体栓塞的几率。
- 2、以胶体羟乙基淀粉等(代血浆)作为胶体增加微气泡在血液中的稳定性,减少了二氧化碳在肺内排出的几率。保持微泡的时间长。
- 3、羟乙基淀粉替代人血白蛋白(如氟碳人血白蛋白微泡剂),无血液制品引起过敏和血源传染性疾病的危险性。
- 4、该种微泡剂和其它微泡剂相同,即可从供血动脉注射也可从外周静脉注射,均可产生相类似的效应。
- 5、微气泡数量的减少(部分经肺循环排出)后,仍足以作为“空化核”,在超声波的作用下产生“空化作用”诱导“声孔效应”,损伤微小和小血管壁,导致小血管内的血栓形成和组织梗塞性坏死。

本发明显著效果,微泡试剂药物本身对人体无毒无害,药物包括治疗方法无损伤,无全身毒性副作用,疗效确切,适宜于各种分期的恶性肿瘤,除肺部肿瘤外的腹腔、盆腔、乳腺

等体表的恶性肿瘤，操作方便，可重复治疗，易于推广。此外，由于该疗法无全身毒性副作用，不产生直接的细胞毒作用，还可用于良性肿瘤的治疗。

本发明还将同位素标记物与包括人血白蛋白的各种靶向物质结合再制成超声微泡造影剂，可完美解决这样的缺陷：治疗前注射，不能超声定位，而在治疗后定位，则无法准确超声定位。既可以通过 SPECT 利用同位素发射 γ 射线进行示踪监测，又可以利用同位素发射的可产生较强电离生物作用的 β 射线对肿瘤进行近距离内放射治疗，灭活肿瘤细胞，并实时监测，随时补充，必将成为肿瘤休眠疗法的新手段。治疗效果的评价也可以用本发明方法比较简单的得到：由于血管栓塞造成的同位素标记物无法再进入，或治疗时血管栓塞造成的同位素标记物无法从毛细血管流出，可以从代谢的量评价治疗的单一或综合效果。

同位素标记微泡试剂的生物学效应的研究主要是通过对超声微泡进行修饰，研究其动力学特性的理论，研究同位素标记微泡的制备以及动物体内代谢动力学和分布，开发超声微泡试剂的工艺路径，为超声微泡试剂临床使用提供科学的依据；为临床肿瘤栓塞治疗提供一个崭新的方法。利用超声微泡试剂定位声孔效应栓塞毛细血管，利用同位素标记进行定位实时监测，及时补充治疗、观察疗效和预测预后；同时还可以利用同位素进行局部放射性治疗，为临床肿瘤治疗提供一个广阔的前景。

本发明结合利用超声微泡连接同位素诱导的肿瘤血管栓塞治疗，是一种极有应用前景的综合治疗新技术对于诊断和治疗用的超声微泡的开发和应用也是十分重要的。

超声辐射放射性微泡致肿瘤血管栓塞技术的研究，在观察到超声辐射诱导小血管血栓栓塞的基础上，提出了放射性技术引入超声造影剂使两者的效应相得益彰，用同位素影像的靶向定位、无创、实时监测的优点，克服了超声微泡的缺点，使得肿瘤治疗过程中能依靠同位素技术实时监测，及时补充治疗，了解预后。

不但用低频、低功率超声诱导微泡的声孔效应引起血管栓塞的方法治疗肿瘤；同时利用发射 β 射线同位素电离辐射的生物学效应对肿瘤细胞的辐射作用，达到一次用药双重治疗的效果。

以 ^{99m}Tc -标记白蛋白微泡等为代表的超声诱导治疗肿瘤是一种局部治疗方法，局部治疗较化疗和放疗的明显优势是使治疗肿瘤的全身毒性降到最低。

符合目前多学科相互交叉，相互渗透，相辅相成，取长补短的研究理念，使肿瘤治疗更科学、更实用。本发明用于各种恶性肿瘤、良性肿瘤、原因不明的新生物、赘生物，以及治疗性梗塞作用于小血管、深部血管，包括肝脏、肾脏、脾脏、胰腺、乳房、前列腺、子宫、子宫颈、输卵管、甲状腺、皮下软组织、肌肉、胸腹壁、鼻、口腔、舌等部位治疗各种器质性疾病。作用的超声波采用低能量和低频率的超声波较好，如 20-50kHz 即可，超声换能器的输出功率约为 1-100W，此能量注入，超声波本身不会给正常机体造成任何不良影响，各种超声微泡试剂均可以成为本发明的药用用途。

附图说明

图 1 为本发明方法所附装置的结构示意图

图2为本发明肿瘤血管栓塞照片对比

图2A正常肝脏组织经单纯超声作用，无血管栓塞形成

图2B肿瘤组织经单纯超声作用后，无血管栓塞

图2C肿瘤组织经超声+微泡剂作用后，可见血管栓塞

图3-5为本发明肿瘤血管栓塞照片对比

图3A肿瘤组织经单纯超声作用后立即处死，无血管栓塞和肿瘤坏死。图3B肿瘤组织经单纯超声作用后1小时，无血管栓塞和肿瘤坏死。

图4A肿瘤组织经超声+微泡剂作用后立即处死，见血管栓塞和肿瘤坏死

图4B肿瘤组织经超声+微泡剂作用后1小时，见血管栓塞和肿瘤坏死。图4C肿瘤组织经超声+微泡剂作用后2小时，见血管栓塞和肿瘤坏死。

图4D肿瘤组织经超声+微泡剂作用后1天，见血管栓塞和肿瘤坏死。以上照片的左为10*10的照片，右为10*20的照片。

图5为重复超声+微泡剂组（每日一次，共3天）后处死可见明显的肿瘤坏死伴出血。图5照片左为4*10的照片，右为10*10的照片。超声微泡试剂注入的方式作为形成毛细血管栓塞剂，在CT或B超的引导下确定需要栓塞的区域，或目直视下选择诱导区域。典型的如肿瘤区域，超声波能量直接通过接触的体表向充有超声微泡试剂的区域进行超声能量传递，毛细血管就会形成栓塞。

图6为本发明结构示意图

图6中金属治疗头1、接头2、电极片3、陶瓷片4、变幅杆4-1、配重5、电源线6、手柄7、端接头8、8-1、接插头9、开关11、电源线10、指示灯12、水囊13。

具体实施方式

可以使用氟碳微泡试剂，其制备是可以取5%人白蛋白溶液10ml装入塑料注射器中，使用进口声振仪处理。声处理过程中向白蛋白溶液内匀速注入氟碳气体。采用该方法制备得到的试剂微泡直径为2.0~5.0 μ m，其中98%<10 μ m；微泡浓度为 $(1\sim2)\times10^{11}$ 个/L。该试剂经静脉注射：超声微泡试剂的注入量为：1-10ml/Kg体重的较大范围，但具体与需控制疾病需控制的区域和性质有关。

超声微泡试剂注入的方式作为（1）动脉注射；（2）静脉注射；（3）动静脉插管或留置导管注射；（4）局部注射。

处理时间也很宽，一般在0.5-60分钟。在动物试验时时间段2、5、20、30分钟没有显著区别。

超声微泡试剂进行的药用的范围是：氟碳微泡试剂，生理盐水制微泡试剂以及如下超声微泡试剂：

- 1) Alburnex 人体白蛋白包膜气泡液体, (Molecular Biosystems Inc. USA)
- 2) fso69 包膜气泡液体, (Molecular Biosystems Inc. USA)
- 3) SHU454 半乳糖气泡液体, (ScheringAG German)

4) SHU508 半乳糖气泡液体, (ScheringAG German)

5) QW3600 微泡试剂 (Sonus Pharmaceuticals Cosla Mesa)

本发明二氧化碳型微泡试剂的实施例:

固含量比例范围: 维生素 C (Vitermin C) 和 NaHCO_3 、代血浆如淀粉比例 (重量比): 10-35: 1-3.5: 20-80, 溶剂的比例是固含量的 3-10 倍, 尤其是 NaHCO_3 的浓度一般在 3-10% 进行配制。上述比例也适用于柠檬酸、乳酸, 葡萄糖酸, 氨基酸的量要更多一些。

NaHCO_3 配制成浓度 2-10% 浓度进行配制, 更好的是 NaHCO_3 配制成浓度 5% 的溶液。更好的范围是维生素 C (Vitermin C)、柠檬酸、乳酸, 葡萄糖酸, 氨基酸和 NaHCO_3 、代血浆如淀粉比例: 20-30: 2-3: 40-60。由于维生素 C (Vitermin C) 等有机酸和 NaHCO_3 、代血浆等均可以单独注射进入人体, 故并不需要严格的比例, 维生素 C (Vitermin C) 和 NaHCO_3 的过量均对人体无甚影响, 代血浆等亦然。当然以摩尔比配制产生最充分的二氧化碳, 本发明折算成重量百分比的范围。

维生素 C (Vitermin C) 等有机酸和 NaHCO_3 反应生成二氧化碳。代血浆等大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体。三种物质的配比:

(1) 20: 2: 40; (2) 30: 3: 60; (3) 25: 2.5: 50; (4) 20: 2: 60; (5) 30: 2: 60;

(6) 30: 3: 40; (7) 20: 3: 60;

(8) 10: 2: 20; (9) 10: 3.5: 80; (10) 10: 3: 70;

(11) 35: 2: 80; (12) 35: 3.5: 70; (13) 35: 3: 60;

(14) 35: 2: 70; (15) 10: 2.5: 50;

上述比例亦同柠檬酸、乳酸、氨基酸。

本发明采用下述国家药典注册的代血浆用品没有显著区别:

- | | |
|-------------------------------|-------------------------|
| 1、羟乙基淀粉 (Hetastarch), | 化学药物分类代码: 401703060101 |
| 2、人血白蛋白 (Human Serum Albumin) | 化学药物分类代码: 4021070102115 |
| 3、右旋糖酐 70 (Dextran-70) | 化学药物分类代码: 401703030501 |
| 4、右旋糖酐 40 (Dextran-40) | 化学药物分类代码: 401703030401 |
| 5、右旋糖酐 10 (Dextran-10) | 化学药物分类代码: 401703030201 |
| 6、聚明胶 (Polygelatin) | 化学药物分类代码: 401703090201 |
| 7、琥珀明胶 (Gelofusine) | 化学药物分类代码: 401703080101 |
| 8、聚维酮 (Polyvidone) | 化学药物分类代码: 401703050101 |
| 9、氧化聚明胶 (Dxypolygelatin) | 化学药物分类代码: 401703090101 |

另还包括自体血液, 自体血浆, 同型血浆, 半乳糖, 葡萄糖, 乳糖。上述半乳糖, 葡萄糖, 单独甚至混和添加均无显著差别。

超声微泡试剂注入的方式作为形成毛细血管栓塞剂, 在 CT 或 B 超的引导下确定需要栓塞的区域, 典型的如肿瘤区域, 超声波能量直接通过接触的体表向充有超声微泡试剂的区域进行超声能量传递, 毛细血管就会形成栓塞; 亦可以进行局部注射微泡试剂。选择性区域中诱

导形成毛细血管栓塞或细胞破坏。

选用氨基酸的实施例：选取用比较大宗生产的药用或输液的胱氨酸、赖氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、半胱氨酸等。实施例具体比例见上述。

本发明的实施例如下（结合实施例的效果照片）：

- 1、小白鼠为实验对象：单纯超声作用，不能有效对毛细血管栓塞
- 2、心脏（动脉）注射微泡剂+超声波作用，效果良好
- 3、经尾静脉注射微泡剂+超声波作用均无副作用，有良好的疗效。
- 4、如 NaHCO_3 配制成折合浓度 5%。

更好的范围是维生素 C（Vitermin C）和 NaHCO_3 、代血浆比例：20-30: 2-3: 40-60。

溶剂常采用注射用水。

溶剂的比例是固含量的 4、6、8、10 倍没有显著区别，主要体现在微泡的含量不同。

物理形成二氧化碳气体微泡试剂的实施例，在压力下将医用二氧化碳气体或液体注入溶有大分子物质的溶液中。大分子物质包括各种代血浆、自体血液，自体血浆，同型血浆，半乳糖，葡萄糖，乳糖等。带压二氧化碳气体微泡试剂须保存在压力罐内，开启前避免摇晃，开启后立即使用，保证微泡的含量和使用的效果。

同位素标记微泡试剂具体实施例：

（一）微泡的制备、物理、化学鉴定：

1、微泡的制备 与上述微泡相似，配置不同蔗糖浓度的 5% ($\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) 人血清白蛋白溶液各 10 ml，置于 50 ml 聚四氟乙烯塑料杯中，溶液依次以氧气和全氟丙烷饱和后，再将 UGI 型超声波发生器的探头略置入液面以下，在 150W 下，声处理 1min（频率固定，20Hz），制备出的微泡，密闭保存，以备测定。

另外可以选用商品化的列微显 SHU508 半乳糖气泡液体和氟碳微泡试剂 Albunex。

用氟碳微泡造影剂，其制备是可以取 5% 人白蛋白溶液 10ml 装入塑料注射器中，使用进口声振仪处理。声处理过程中向白蛋白溶液内匀速注入氟碳气体。采用该方法制备得到的造影剂微泡直径为 $2.0\sim 5.0\mu\text{m}$ ，其中 98% $<10\mu\text{m}$ ；微泡浓度为 $(1\sim 2)\times 10^{12}$ 个/L。超声微泡造影剂注入的方式作为（1）动脉注射；（2）静脉注射；（3）动静脉插管或留置导管注射；（4）局部注射。

同时制作二氧化碳型微泡试剂维生素 C（Vitermin C）和 NaHCO_3 构成的二氧化碳化学形成微泡试剂，以羟乙基淀粉作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体。二氧化碳型微泡直径较大， $20\mu\text{m}$ 左右。

为便于与交换产生 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 核素结合，选定溶液的 pH 值为 6。选用不同的核素交换反应的条件，选取不同的 pH 值。

2、微泡的性能测定

微泡制备 1h 及 24h 后，分别实行测定。耐热性能通过测定 5 个温度点下，微气泡的存活率来实现，测量的时间间隔为 30 min，由恒温水浴箱实现恒温过程，微泡浓度由细胞计数

器和显微镜测定,通过调节显微镜的比色片,使微泡同周围环境区分开,以便于观测;微泡的大小通过显微镜上的标尺估算,视频图像由连接在显微镜上的摄像头动态输入计算机。微泡造影剂谐波性能,通过超声仪测定,测定时用少量奶作为背景散射源,并用金属板和造影剂的回波反射信号进行对比。

pH 值为 6。微泡的性能测定表明,上述几个在 1 小时之内微气泡的存活率大于 90%。均可以应用于临床。

(二) 同位素标记微泡的制备:

1、半成品的制备:

①将 25%人血清白蛋白 4 毫升加入 2 毫升 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶液 (1 毫克/毫升) 内。

②用 1N NaOH 调节 pH 值为 6。

③用生理盐水稀释至人血清白蛋白 ≥ 135 毫克/毫升。

3、标记操作:

加消毒过的 $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ 液 0.1~1 毫升于上述 1 毫升半成品溶液内,混合 1 分钟即可供临床使用。

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -白蛋白的制备; $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -白蛋白,将 2.1mg 的白蛋白, $126 \mu\text{g SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和少量苯甲醇于安瓿内冻干,加入 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ ml 混匀后成淡黄色悬浮液,然后在室温下放置 5 分钟,再混合数秒后即可静脉注射。对于这种比较粘稠性的白蛋白溶液或胶体溶液可以采用超声波探头在溶液中产生微泡。

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -白蛋白微泡的形态观察,泡径,泡径分布仍然与常规微泡没有多大区别,泡径分布 20-50 μm 。

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -白蛋白微泡能够稳定一段时间; $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -抗转铁蛋白受体的单克隆抗体结合的几种微泡根据 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -抗转铁蛋白受体的单克隆抗体产品说明书制作微泡。注射级的同位素核素如亚锡甲氧异腈 (MIBI)、邻碘 [^{131}I] 马尿酸钠注射液 ^{125}I 均可直接使用。

Wistar 大鼠尾静脉注射同位素标记微泡,于不同时间测定各器官的放射性,通过计算机处理数据,获得药物动力学参数。

大鼠同位素标记微泡的体内分布实验:

大鼠静脉注射同位素标记白蛋白微泡,测定注射后 2 分,30 分,60 分,120 分后,血液、心脏、肝、肾、脾、脑、肺、骨等处的放射性计数。

大鼠整体放射性自显影:

向正常 Wistar 大鼠尾静脉注射同位素标记白蛋白微泡后迅速浸入 -80°C 丙酮与干冰的混合液中,然后用质量分数为 8% 的羧甲基纤维素制备的包埋剂包埋, -80°C 冰箱中冷冻 2 h, LKB-2250PMV 大型推拉式冰冻切片机切片,切片厚度为 40 μm ,冰冻脱水干燥,用 GS-250 分子成像系统进行扫描,观察同位素标记白蛋白微泡在大鼠体内和脑内的放射性分布。

超声诱导正常大鼠、荷瘤大鼠同位素 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) 标记微泡的血管栓塞的生物学效应:

选用对照组和实验组各 12 只大鼠,对照组静脉注射微泡,实验组大鼠静脉注射同位素

标记白蛋白微泡,低频、低功率超声测定诱导栓塞局部血管。实验后 2 分, 30 分, 60 分, 120 分, 24 小时、48 小时, 用显微镜观察对比心脏、肝、肾、脾、脑、肺、骨等处的病理情况, 同时进行同位素显像监测。放射性均匀分布。用治疗肝癌: ^{99m}Tc -抗转铁蛋白受体的单克隆抗体对实验组荷肝肿瘤 12 只大鼠进行试验。

同时观察荷肝肿瘤大鼠同位素 (^{99m}Tc) 标记微泡的血管栓塞的生物学效应, 放射性在肝区富集分布, 切片表明与对照组相比: 5-10 天后, 实验组比对照组的肿瘤抑制效果明显。免疫组织化学方法和原位杂交等分子病理学方法检测正常动物及移植瘤模型的组织标本血管损伤的标记物和放射性核素肝血管造影方法观察辐射区血流的改变也得到正面的效果。

用 ^{131}I - 邻碘马尿酸盐有相似的效果。

(三) 采用低频、低功率超声诱导荷瘤大鼠同位素 (^{131}I 、 ^{125}I) 标记白蛋白微泡的血管栓塞的生物学效应: 选用对照组和实验组各 12 只大鼠, 对照组注射 (^{99m}Tc) 标记白蛋白微泡, 实验组大鼠静脉注射 ^{131}I 标记白蛋白微泡, 低频、低功率超声测定诱导栓塞局部血管。实验后 2 分, 30 分, 60 分, 120 分, 24 小时、48 小时, 用显微镜观察对比心脏、肝、肾、脾、脑、肺、骨等处的病理情况, 同时进行同位素显像监测。亦有同上例的效果。

超声+微泡试剂作用时, 血管栓塞率达到 90%。而加 ^{99m}Tc 同位素血管栓塞率并无显著增加。

超声换能器的输出功率约为 1-100W, 一般 5-30W, 频率在 20-50kHz, 此能量注入, 超声波本身不会给正常机体造成任何不良影响, 各种超声微泡造影剂均可以成为本发明的药用用途。处理时间也很宽, 一般在 0.5-60 分钟。

(四) 超声微泡造影剂形采用上述二氧化碳型发生型微泡试剂, 并包括选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体。

典型的配方如下: 维生素 C (Vitermin C, 包括上述各种有机酸) 25% (折合浓度 100%)

NaHCO_3 50% (折合浓度 5%)

羟乙基淀粉 (Hetastarch) 25%

每公斤体重注射 1-10 毫升, 产生的微泡数量达到每毫升 10^6 - 10^{10} , 粒径 1-10 微米, 本试剂临床使用时应按体重身高、体表面积计算二氧化碳最大承受量, 在上述范围内调整。

二氧化碳型微泡剂, 在体内易于溶解随呼吸从肺排出, 减少微气泡引起气体栓塞的几率。

以胶体羟乙基淀粉等 (代血浆) 作为胶体增加微气泡在血液中的稳定性, 减少了二氧化碳在肺内排出的几率。保持微泡的时间长。

羟乙基淀粉替代人血白蛋白 (如氟碳人血白蛋白微泡剂), 无血液制品引起过敏和血源传染性疾病的危险性。采用 ^{99m}Tc 发生器和 ^{99m}Tc 药盒的研制” 以其技术上的先进性及其取代进口产品 (北京原子高科核技术应用股份有限公司)。

(五) 本发明所涉及的放射性同位素标记方法可以用常规的方法:

1. 同位素交换法 是最简单的标记化合物制备方法之一,即将欲标记的普通化合物 Ax 与简单放射性化合物 Bx^* 混合,在特定条件下,放射性化合物的放射性核素 X 可与普通化合物的非放射性同位素 X 发生交换反应,而获得 AX^* 。 $Ax + BX^* \rightarrow AX^* + BX$ 。

2. 化学合成法 是常用的放射性核素标记化合物的制备方法。利用最简单的放射性化合物作原料,根据通常化学合成原理来制备各种标记化合物,也可以采用化合物的中间体,以简化化学合成的线径和步骤。

3. 核素单纯标记法 某些有机化合物,如蛋白质、多肽等只需通过简单的化学反应,即能将放射性核标记在化合物上。如 ^{131}I 一碘化蛋白类的制备,即属任何蛋白质、多肽或一些不含蛋白质的化合物,只要联结上酪氨酸分子后,均可用碘加以标记。最常用的有氯胺-T法和 lodogen 法。首先将 $Na^{131}I$ 氧化成 $^{131}I_2$ 分子, $^{131}I_2$ 即能与蛋白分子中的酪氨酸芳香环上的羟基邻位的二个氢原子发生置换反应,而获得放射性碘标蛋白。

4. 络合物形成法 是化学合成的重要分支,也是核医学中制备标记化合物常用的方法,目前 80% 的常用标记化合物均由络合物原理制备。这是由于 ^{99m}Tc 和 ^{113m}In 发生器的广泛应用,在核医学中占有突出地位所致。通过络合剂的配位键与金属离子络合的途径,仅 ^{99m}Tc 一项,即可制备多达数十种 ^{99m}Tc 的标记化合物。

5. 生物合成法 把简单的放射性核素标记化合物引入生物(植物、动物和微生物)体内,通过生物的生理、代谢过程,可以制备一些难以化学合成的复杂的标记化合物,如蛋白质、激素等。

例:病人体重 75 公斤,给予 10 毫居里 ^{32}P ,设 ^{32}P 被完全吸收,均匀分布于全身,没有生物排出,求组织所受的总吸收剂量?

^{32}P 在体内均匀分布的放射性浓度,本发明在采用同时具有治疗功能的带有靶向物质的示踪或标记同位素时遵循上述方法。

装置实施例:

本发明装置主要是现有技术,其参数选择是:作用的超声波采用低能量和低频率的超声波较好,如 20-50kHz 即可,超声换能器的输出功率约为 1-100W,此能量注入,超声波本身不会给正常机体造成任何不良影响。处理时间也很宽,一般在 0.5-60 分钟。在动物试验时时间段 20、30 分钟没有显著区别。

超声微泡造影剂产生注射装置的结构:包括装入塑料注射器中及声振仪构成。声处理过程中制备得到的造影剂微泡直径为 $2.0 \sim 5.0 \mu m$,其中 $98\% < 10 \mu m$;微泡浓度为 $(1 \sim 2) \times 10^{12}$ 个/L。该造影剂经静脉注射。本发明先采用 B 超定位(也可采用 X 光、CT 定位)以确定治疗的部位和区域,将配制好的微泡试剂注入患者的外周血管或通过介入插管将微泡试剂注入待治疗位置,随后对治疗部位或区域行低频低功率的超声照射。超声微泡造影剂注入的方式作为形成毛细血管栓塞剂,在 CT 或 B 超的引导下确定需要栓塞的区域,典型的如肿瘤区域,超声波能量直接通过接触的体表向充有超声微泡造影剂的区域进行超声能量传递,毛细血管就会形成栓塞。

治疗头实施例: 超声金属治疗头从端接头处伸出, 水囊或称水膜囊 13 套在端接头上。端接头上设有排水接头 2, 用于将过量的水排出, 并可以保证水膜囊内水的注满, 通过排水接头 2 将水排出后, 可以用塞子将排水接头的出口塞住。水膜囊 13 以乳胶为好, 可以一次性的更换使用。注水囊还可以注入其它液体, 能进行有效的超声耦合。

权利要求

1、超声辐射微泡试剂致毛细血管栓塞肿瘤的方法，其特征是将超声微泡试剂注入的方式作为形成毛细血管栓塞剂，在需要形成毛细血管栓塞的部位用超声波进行贴近照射，选择性诱导形成区域毛细血管栓塞。

2、由权利要求 1 所述的超声辐射微泡试剂致毛细血管栓塞肿瘤的方法，其特征是采用低能量和低频率的超声波。处理时间在 0.5-60 分钟。频率范围 20-50kHz，超声换能器的输出电功率约为 1-100W，声功率约为 0.1-50W。

3、超声辐射微泡试剂，其特征是可以使用超声微泡试剂进行的药用的范围是：氟碳微泡试剂，生理盐水制微泡试剂以及如下超声微泡试剂：

- 1) Alburnex 人体白蛋白包膜气泡液体 (Molecular Biosystems Inc. USA)，
- 2) fso69 包膜气泡液体 (Molecular Biosystems Inc. USA)，
- 3) SHU454 半乳糖气泡液体 (ScheringAG German)，
- 4) SHU508 半乳糖气泡液体 (ScheringAG German)，
- 5) QW3600 微泡试剂 (Sonus Pharmaceuticals Cosla Mesa)。
- 6) 二氧化碳型微泡试剂，包括选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体，大分子的物质包括代血浆、自体血液，自体血浆，同型血浆，半乳糖，葡萄糖，乳糖，羟乙基淀粉 (Hetastarch)，人血白蛋白 (Human Serum Albumin)、右旋糖酐 70 (Dextran-70)、右旋糖酐 40 (Dextran-40)、右旋糖酐 10 (Dextran-10)、聚明胶 (Polygeline)、琥珀明胶 (Gelofusine)、聚维酮 (Polyvidone) 或氧化聚明胶 (Dxypolygelatin)。。

4、由权利要求 3 所述的超声辐射微泡试剂，其特征是物理形成二氧化碳气体微泡试剂，在压力下二氧化碳气体或液体注入溶有大分子物质的溶液中。

5、由权利要求 3 或 4 所述的超声辐射微泡试剂，其特征是采用有机酸和 NaHCO_3 构成的二氧化碳化学形成微泡试剂，有机酸为维生素 C、乳酸，柠檬酸，琥珀酸，酒石酸，乙酸，乳糖酸、半乳糖酸、葡萄糖酸、氨基葡萄糖酸或氨基酸。

6、由权利要求 3 或 4 所述的超声辐射微泡试剂，其特征是固含量比例范围：有机酸和 NaHCO_3 、大分子的物质三者的比例为：10-35: 2-3.5: 20-80，溶剂的比例是固含量的 3-10 倍。

7、由权利要求 3 或 4 所述的超声辐射微泡试剂，其特征是带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂，将超声微泡造影剂与带有靶向物质的示踪或标记同位素物质混合或结合。带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂的种类包括 ^{125}I 、 ^{123}I 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP 等)、 ^{111}In 、 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{13}N 、 ^{82}Rb 。其中正电子衰变放射性核素 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{18}F 等机体天然存在的元素标记的放射性药物用于 PET 显像。同时具有治疗功能的带有靶向物质的示踪或标记同位素为： ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{198}Au 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP

等)、 ^{111}In 、 ^{125}I 及 ^{131}I 、 ^{153}Sm -EDTMP 为主的一系列 β 内介入治疗剂, ^{90}Y -GTMS、 $^{89}\text{SrCl}_2$ 等。

8、由权利要求 3 或 4 所述的超声辐射微泡试剂,其特征是与同位素结合的靶向物质包括人血清白蛋白($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAA)、植酸钠、胶体 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、标记红细胞、EHIDA、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PMT、 ^{131}I -玫瑰红、硫胶体、DTPA、EHIDA、二巯丁二酸($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA)、葡萄糖酸钙、邻碘马尿酸,分子核医学的单克隆抗体、癌基因反义寡核苷酸。

9、由权利要求 8 所述的超声辐射微泡试剂,其特征是微泡试剂为氟碳微泡试剂、生理盐水制微泡试剂、半乳糖气泡液体、包膜气泡液体或二氧化碳型发生型微泡试剂,并包括选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体。

10、超声微泡造影剂用于形成毛细血管栓塞的医疗装置,其特征是由超声微泡造影剂产生注射装置、区域定位装置和超声治疗装置组合构成,超声微泡造影剂产生注射装置将超声微泡造影剂注入的方式作为形成毛细血管栓塞剂,区域定位装置确定需要形成毛细血管栓塞的部位,超声治疗装置为超声能量输出探头。超声治疗装置的输出能量和输出频率范围是:低能量和低频率的超声波,频率在 20-50kHz 间,超声换能器的输出功率约为 1-100W。

11、由权利要求 1 所述的超声微泡造影剂用于形成毛细血管栓塞的医疗装置的设置方法,其特征是区域定位装置为 B 超、X 光或 CT。

12、带有藕合和缓冲保护装置的手持式超声治疗头,包括金属治疗头(1)、电极片(3)、陶瓷片(4)、变幅杆(4-1)、配重(5)、电源线(6)、(手柄 7)、端接头(8、8-1)构成,其特征是在治疗头上设有包裹的水囊。

13、由权利要求 1 所述的带有藕合和缓冲保护装置的手持式超声治疗头,其特征是金属治疗头从端接头处伸出,水囊(13)套在端接头上,水囊(13)以乳胶制成。。

14、由权利要求 1 或 2 所述的带有藕合和缓冲保护装置的手持式超声治疗头,其特征是端接头上设有排水接头(2)。

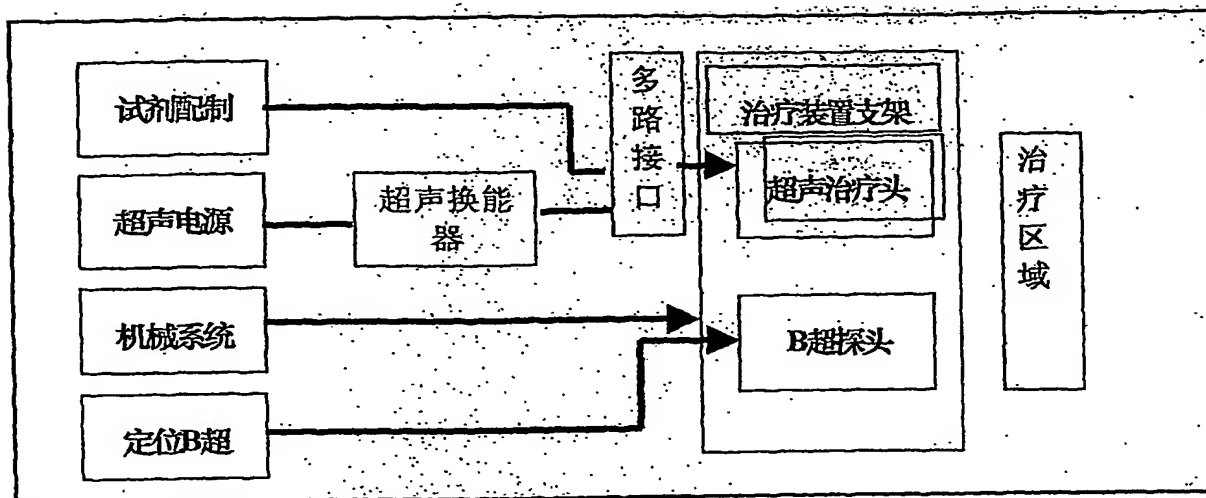


图1

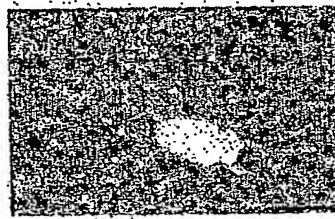
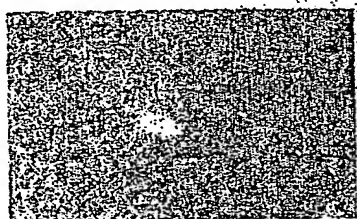


图2A

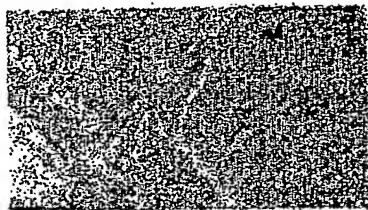


图2B



图2C

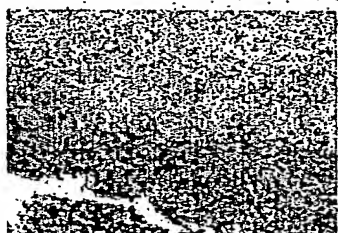


图 3A

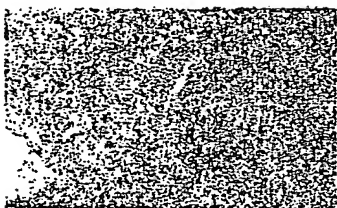


图 3B

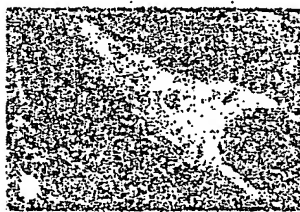
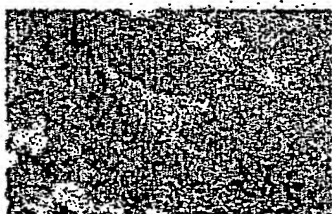


图 4A

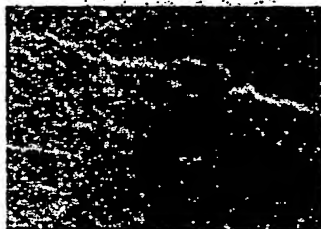
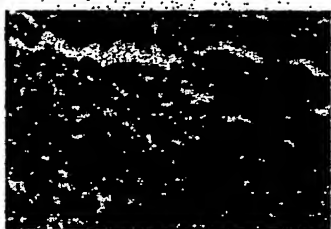


图 4B



图 4C



图4D



图5

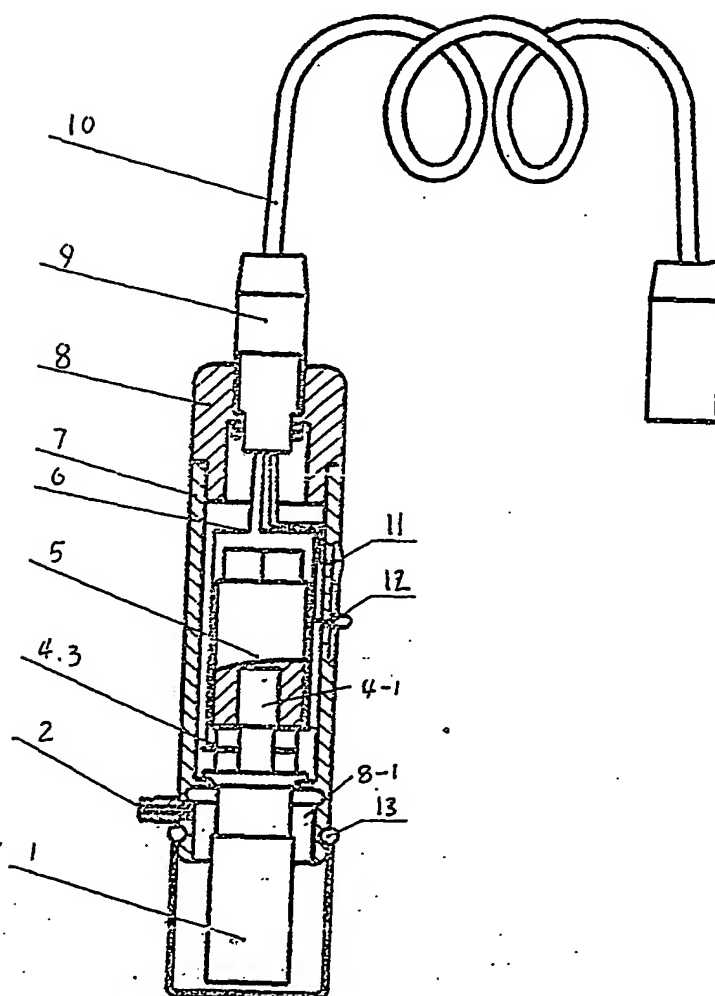


图6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2004/000555

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC7: A61K 9/00, A61K 51/00, A61K 121:00, A61B 18/00, A61P 35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC7: A61K, A61B, A61N, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

CNKI Full-Text database, Chinese Medicine Abstract

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, PAJ, Cprs, Medline, CA; ultrasound, Microbubble, contrast, isotope, vascular embolization, embolism, target, tumour, cancer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Wu Wei, et al. Formation of micro-vessel embolization in rabbit liver induced by low power ultrasound combined with LEVOVIST agent. JOURNAL OF SOUTHEAST UNIVERISY(Natural Science Edition), May 2003, Vol.33, No.3:300-302	1-2
X	WAN Ming-xi et al. A NOVEL METHOD FOR PRODUCING ENCAPSULATED ULTRASOUND CONTRAST AGENTS BASED ON AIR-ATOMIZATION TECHNIQUE. CHINESE JOURNAL OF BIOMEDICAL ENGINEERING, June 2002, Vol.21, No.3:237-241	3-5
X,Y	TANG Xiao-ming, et al. Preparation study of intravenous myocardial contrast agent, Chin Heart J, 2001,13(6):435-439	3, 4, 5
Y	Xu Zhizhang, et al. Clinical Application of CO ₂ Hepatic Arterio-Sonography(CO ₂ -HAS) in the Diagnosis of Portal Vein Tumor Thrombus. Chin J Ultrasonogr, July 1998, Vol.7, No.4:195-198	4, 5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

08 Dec. 2004

Date of mailing of the international search report

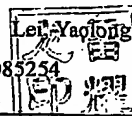
09 · DEC 2004 (0 2 · 1 2 · 2 0 0 4)

Name and mailing address of the ISA/

6, Xitucheng Road, Jimen Bridge, Haidian District
BeiJing, 100088, P. R. China
Fascimile No. (86-10) 62019451

Authorized officer

Telephone No. (86-10)62085254



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2004/000555

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Xu Zhizhang, et al. Clinical Application of CO ₂ Hepatic Arterio-Sonography(CO ₂ -HAS) in the Diagnosis of Portal Vein Tumor Thrombus. Chin J Ultrasonogr, July 1998, Vol.7, No.4:195-198	6
A	Zhou Ying, et al. Advance of the study of ultrasound mediated microbubble targeted therapy.	7-9
A	CN 1073453C(Hou Zhaohuan et al) 24 Oct 2001, see claim 1, full text	10,11
A	CN 1224626A(Wang Zhilong et al) 04.Aug.1999, see claim1-5, full text	12-14
A	CN 2162257Y (Liu Xiaodong et al) 20.Apr.1994, see claim1, full text	12-14

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2004/000555

A. 主题的分类

IPC7: A61K 9/00, A61K 51/00, A61K 121:00, A61B 18/00, A61P 35/00

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC7: A61K, A61B, A61N, A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

CNKI Full-Text database, Chinese Medicine Abstract

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPODOC, PAJ, Cprs, Medline, CA; 超声, 微泡, 造影, 血管栓塞, 同位素, 靶向, 肿瘤, 癌; ultrasound, Microbubble, contrast, isotope, vascular embolization, embolism, target, tumour, cancer

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	吴巍, 宁新宝, 等. 低功率超声辐射 LEVOVIST 试剂致家兔肝脏微血管栓塞的研究. 东南大学学报(自然科学版), 2003 年 5 月, 第 33 卷第 2 期: 300-302	1-2
X	万明习, 刘凯文, 等. 包膜超声造影剂喷射雾化制备方法研究. 中国生物工程医学工程学报, 2002 年 06 月, 第 21 卷第 3 期: 237-241	3-5
X,Y	唐晓明, 钱学贤, 等. 经静脉心肌声学造影剂的研制. 心脏杂志, 2001, 13 (6): 435-439	3, 4, 5
Y	徐智章, 蒋天安, 等. CO ₂ 肝动脉造影在诊断门静脉癌栓中的应用. 中华超声影像学杂志, 1998 年 07 月, 第 7 卷第 4 期: 195-198	4, 5

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☐ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

08-11-2004

国际检索报告邮寄日期

09-12月 2004 (09-12-2004)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

授权官员



电话号码: (86-10)62083254

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2004/000555

C(续). 相关文件

类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	徐智章, 蒋天安, 等. CO ₂ 肝动脉造影在诊断门静脉癌栓中的应用. 中华超声影像学杂志, 1998 年 07 月, 第 7 卷第 4 期: 195-198	6
A	周颖, 单江, 刘伊丽. 超声介导微泡靶向治疗作用的研究进展. 中华超声影像学杂志. 2002 年 12 月, 第 11 卷第 12 期: 756-758	7-9
A	CN 1073453C(侯朝焕 等) 24. 10 月 2001, 参见权利要求 1, 说明书全文	10, 11
A	CN 1224626A(王芷龙 等) 04. 08 月 1999, 权利要求 1-5, 说明书全文	12-14
A	CN 2162257Y (刘晓东 等) 20. 04 月 1994, 权利要求 1, 说明书全文	12-14